Informe Trimestral

Actividades realizadas como parte de lo contemplado en acuerdo formal entre Minera Panamá S.A (MPSA) y The Houston Zoo Inc. (HZI) para la conservación y manejo *ex situ* de Especies de Interés (EdI) de Anfibios encontrados dentro del área de uso múltiple del proyecto Cobre Panamá.

Periodo
15 de Febrero al 16 de Mayo 2013

Presentado por

Edgardo J. Griffith
Director de Proyecto



Oophaga vicentei

16 Mayo, 2013

1. Introducción

De acuerdo a lo establecido originalmente en el acuerdo formal celebrado entre Minera Panamá S.A. **(MPSA**) y The Houston Zoo Inc (**HZI**) en el cual **MPSA** se compromete a financiar en su totalidad la construcción de espacio físico en las instalaciones existentes de El Centro de Conservación de Anfibios de El Valle (**EVACC,** por sus siglas en inglés) ubicado en el zoológico El Níspero, El Valle de Anton, Coclé. Adicionalmente MPSA se ha comprometido en proveer toda la coordinación logística necesaria antes, durante y después de que finalicen las actividades de rescate y translocación de Especies de Interés (**EdI**) de anfibios que ocurren dentro del área de uso múltiple del Proyecto Cobre Panamá (**PCP**).

En el antes mencionado acuerdo entre **MPSA** y **HZI**, el cual fue firmado en Marzo del 2011, ambas partes entienden la necesidad de crear espacio adicional a la infraestructura de **EVACC**, y convienen en la construcción de un anexo, que constara de dos laboratorios con suficiente espacio físico (aproximadamente 20 m^2 cada uno) para alojar a los individuos de las cuatro especies que necesitan ser rescatadas del área que será afectada por las actividades de construcción de la mina y posterior extracción de cobre del Proyecto Cobre Panamá. en estos momentos la infraestructura se encuentra lista y apta para alojar individuos de las especies que serán rescatadas.

Teniendo en cuenta que el objetivo fundamental de éste acuerdo, realizado entre **MPSA** y **HZI** es el de trabajar en colaboración para lograr rescatar especies de anfibios nativos del área del distrito de Donoso, concentrándonos en aquellas especies cuyas poblaciones se verán afectadas por las actividades de minería a desarrollarse en ésta zona, se encuentren amenazados de extinción o sus poblaciones estén experimentado declinaciones masivas en los últimos años por la acción del hongo quitridio.

En este informe se reportan las actividades más sobresalientes ejecutadas durante los tres últimos meses y que están encaminadas a lograr la ejecución y efectividad del vigente acuerdo, entre MPSA-HZI. Como resultado de lo anterior y dado que la infraestructura se encuentra en su fase operacional, esperamos dar inicio a las actividades de rescate de las **EdI** de anfibios pronto.

2. Objetivo General

“Trabajar en colaboración para lograr rescatar EdI de anfibios nativos del área del distrito de Donoso, concentrándonos en aquellas especies cuyas poblaciones se verán afectadas por las actividades del PCP a desarrollarse en ésta zona y que se encuentren amenazados de extinción; sus poblaciones estén experimentado declinaciones masivas en el resto de su ámbito de distribución en los últimos años por la acción del hongo quitridio (*Batrachochytrium dendrobatidis*), la perdida de hábitat y/o la combinación de estos y otros factores nocivos para que dichas poblaciones se mantengan en su hábitat natural.

3. Objetivos Específicos

La implementación de un programa preliminar de monitoreo y rescate con posterior manejo ex situ de las poblaciones de Atelopus varius, Andinobates spp, Craugastor evanesco y Gastrotheca cornuta que se verán afectadas.

Búsqueda activa y generalizada de los individuos de las EdI de anfibios y extraerlos de su entorno natural para formar colonias saludables y viablemente reproductivas en cautiverio, a fin de garantizar la sobrevivencia de las mismas y de ser posible en el futuro, reintroducir dichas especies en ambientes saludables.

Capacitar a biólogos y técnicos panameños con técnicas de identificación adecuadas, colecta de “frotis de piel de anfibios (swabs)”, rescate y manejo de anfibios amenazados para llevar a cabo programa de manejo ex situ.

Metodología

Éste proyecto cuenta con un aspecto de monitoreo de campo, mediante el cual en la medida de lo posible el personal de EVACC evaluará el estatus de las poblaciones por un periodo determinado de tiempo, lo que nos permitirá hacer estimados del tamaño y estatus de las poblaciones antes de iniciar las colectas y trabajos de rescate de anfibios (ésta etapa del acuerdo fue realizada por MWH Panamá, auspiciada por MPSA). Para aquellos sitios que serán alterados por completo por las actividades de construcción de campamentos, carreteras e infraestructura en general del Proyecto, haremos nuestros mejores esfuerzos para ubicar y extraer el mayor número de animales posible. Idealmente, nuestras labores de colecta deben de ser coordinadas con personal que se encuentre llevando a cabo rescate de fauna, ya que pronosticamos que estaremos encontrando individuos de especies no clasificadas como EdI, pero que sin embargo necesitan ser reubicadas.

Debido a que estaremos trabajando con mas de una especie, con diferentes tipos de historia natural, será necesario implementar diferentes técnicas de muestreo, colecta y rescate, con el fin de maximizar el número de animales encontrados, una vez se hayan iniciado las labores de rescate.

Para seleccionar los sitios de colecta asociados a las especies de interés, utilizaremos como base los resultados el estudio de monitoreo e inventario de especies realizados

previamente por la compañía consultora MWH Panamá en el 2010 y el 2011, además de coordinar con el personal encargado de proyectos y plataformas.

Aunque nuestros objetivos no son inventariar o monitorear la totalidad de las poblaciones de anfibios presentes dentro y fuera del ámbito de influencia del Proyecto Cobre Panamá, utilizaremos las mismas técnicas recomendadas para realizar estudios de inventario y monitoreo. Esto lo atribuimos al hecho de que nuestro interés principal, es el de ubicar a todos los individuos presentes dentro de un área determinada, independientemente de cual sea el propósito final para los individuos encontrados (rescate, manejo ex situ, translocación, etc.).

Se colectaran muestras de piel o “swabs” o raspados, frotis de piel con el fin de hacer análisis de PCR en tiempo real, para determinar la presencia del hongo patógeno Batrachochytrium dendrobatidis, agente causante de la mortal enfermedad cutánea de los anfibios, quitridiomicosis.

Como medida preventiva contra el congo quitridio, todos los animales colectados que formarán parte del componente de manejo ex situ, serán tratados con solución de Itraconazole al 0.005-0.01% (dependiendo de la especie y estadio de desarrollo) por 10 minutos por 10 días. Adicionalmente durante el periodo de cuarentena los animales serán monitoreados para determinar la presencia de endoparásitos, especialmente aquellos del tracto respiratorio del género Rhabdias. Para el tratamiento de infección por endoparásitos aplicaremos una solución de ivermectina, la cual es un antiparasitario de amplio espectro y resulta efectivo para infecciones de este tipo, además de que el método de aplicación no es invasivo para los animales. Otro componente con propiedades anti-parasitarias que podremos utilizar es Drontal plus, el uso de éste dependerá de la situación y condición del o los animales a ser tratados.

Normalmente los rescates son ejecutados por equipos conformados por un mínimo de tres personas (Especialista, Biólogo asistente y guía de campo-machetero) y se organizaran en coordinación con personal de MPSA, haciendo recorridos y búsquedas exhaustivas de las EdI en cada sitio alrededor de los helipads utilizados por personal de MWH y áreas a ser liberadas para su tala. Se colectan datos de campo específicos para cada especie e individuo y el hábitat donde se encuentren. Debido a la complejidad del medio y diferentes tipos de hábitos e historia natural de las EdI, los rescates serán realizados durante el día y la noche. Cada gira de campo tendrá una duración minima de tres días y un máximo de siete, sin embargo, la duración de las giras estará determinada por el número y condición clínica de los individuos colectados durante un determinado periodo de tiempo. En caso de ser necesario se ha establecido un centro de acopio y atención temporal que consiste en un contenedor de 20 pies, modificado para cumplir con condiciones mínimas requeridas para mantener anfibios por un corto periodo de tiempo (3-10 días) en el área del Campamento de MPSA, para mantener individuos colectados, antes de ser trasladados a las instalaciones de cuarentena de EVACC y posteriormente al Modulo de Conservación de Anfibios de MPSA-EVACC, en El Zoológico El Níspero, El Valle de Anton. Tendremos especial cuidado de proveer alimentación adecuada a aquellos individuos colectados que así lo requieran y de ser necesario también estaremos en capacidad de dar inicio a los tratamientos profilácticos propios al proceso de pre-incorporación a nuestra cuarentena.

Sitios de Colecta

Inicialmente y de acuerdo con lo reportado por el estudio de MWH, los sitios que presentan mayor diversidad y abundancia de especies y en donde debemos concentrar nuestros esfuerzos de rescate son las zonas Norte y Oeste.

Tabla 1. Listado de especies encontradas para cada helipad dentro de área de concesión (MWH, 2011)

Especie de Interés	C01	C12	C18	C24	C11	C28	C02	C43	C29	C15	C17	C22
Atelopus varius				X								X
Andinobates spp.			X					X	X			
Craugastor evanesco							X			X	X	
Gastrotheca cornuta							X			X	X	

Tabla 2. Cantidad de individuos a ser colectado por cada Especies de Interés (EdI).

Nombre científico	Nombre común	Cantidad	Estatus de conservación/comentarios
Atelopus varius	Rana arlequín	50	En peligro crítico
Andinobates spp	Rana venenosa	50	Posible especie nueva, endémica, DD
Craugastor evanesco	Rana ladrona	50	En peligro crítico
Gastrotheca cornuta	Rana marsupial cornuda	50	En peligro crítico

Dependiendo de la especie (taza de mortalidad y pobre adaptación a cautiverio) es posible que tengamos que colectar un 50% más de lo indicado en la tabla anterior.

Actividades

Durante los últimos tres meses las actividades mas sobresalientes realizadas por parte del personal del departamento de Biodiversidad de MPSA y Edgardo J. Griffith relacionadas a la ejecución del acuerdo entre MPSA – HZI comprenden temas relacionados al trabajo de campo, mejoramiento y creación de nueva infraestructura, inspecciones de campo y capacitación relacionada a la elaboración de planes de manejo de especies. La participación de ambas partes fue activa y el objetivo principal

de dichas actividades fue el de buscar el mejoramiento de las condiciones para la aplicación de medidas adecuadas para la ejecución del acuerdo existente entre MPSA – HZI.

6.1.- 13 al 20 de Febrero 2013

En esta semana la compañía contratista Engeneering & Construction Contract Management dio inicios a los trabajos de corrección y mejoramiento de sistema eléctrico de la infraestructura de EVACC.

Los trabajos durante esta primera etapa se han enfocado en colocar adecuadamente el aislamiento a tierra de toda la infraestructura además de evaluar y reemplazar los sistemas de protección “breakers” existentes por los más adecuados de acuerdo a la carga que deben de soportar.

Adicionalmente se ha evaluado el balance de las cargas de toda la infraestructura en relación con la cantidad de voltios proporcionados por la compañía Unión FENOSA-Edemet S.A. en virtud de la distancia de la infraestructura al transformador.

Ingeniero Electromecánico y Manager de la compañía contratista, Ing. Guillermo Lasso nos proveerá un documento técnico, el cual será remitido a Unión FENOSA, adjunto a solicitud para aumentar la cantidad de voltios proporcionados.





Foto1. Colocación adecuada de tierra o “ground” **Foto2. Evaluación de carga existente y conexión**

Lamentablemente en esta semana murió uno de los animales que mantenemos en cuarentena, lo cual coincidió con el inicio de los tratamientos finales de Itraconazole al 0.01% para combatir el hongo Batrachochitrium dendrobatidis (Bd).

El animal fallecido fue propiamente preservado para ser entregado como espécimen de colección al Museo de Vertebrados de La Universidad de Panamá. Se ignoran las causas de la muerte de dicho animal (requisito necesario para obtener un nuevo permiso por parte de la Autoridad Nacional del Ambiente)

El animal fallecido es un macho, colectado en Julio del pasado año y proveniente del área de Cantera Old Pertaquilla. El animal fue preservado en formalina al 10%.



Foto3. Macho de Atelopus varius, fallecido en cuarentena

A todos los animales se les fue colectada una muestra de piel antes de iniciar el tratamiento, para su posterior análisis de ADN mediante la técnica de qPCR. Esperamos poder determinar con certeza si los animales están infectados con el hongo Bd, o no. Hasta la fecha los laboratorios que utilizamos para hacer el diagnostico se encuentran fuera de servicio.

Debido a que los resultados del PCR pueden tomar algún tiempo, estamos aplicando el tratamiento con el antimicótico Itraconazole al 0.01% de manera profiláctica a todos los animales dentro de la colección de cuarentena. Una vez finalizado el tratamiento (en total son 10 días de tratamiento), los animales serán trasladados a las nuevas infraestructuras del Modulo de Conservación de Anfibios de MPSA.

De igual manera, el **tratamiento** con Itraconazole al 0.01% representa una manera práctica de proporcionar entrenamiento y capacitación indispensable para el nuevo personal que se encuentra asistiendo en nuestro proyecto.





Foto 4-5. Colección de muestra de Bd, por Abileth Gonzalez.

El tratamiento que estamos aplicando dio inicio el día Sábado 16 y se extenderá hasta el lunes 25 de Febrero. Y consiste en mantener a los individuos en bolsas Ziplocs conteniendo 25ml de solución de Itraconazole 0.01%, por espacio de 10 minutos al día por diez días.

1. El procedimiento anterior demanda mucho tiempo, ya que durante el tratamiento todos los contenedores deben de ser desinfectados diariamente.



Foto6. *A. varius* en ziplocs siendo tratados



Foto7. Contenedores limpios y listos para animales

Contenedor de 20 pies de área de campamento MPSA se encuentra listo para ser utilizado como recinto temporal de los animales rescatados.

Planeamos iniciar las colectas el antes posible, para lo cual estamos programando que todo el personal cuente con las inducciones de seguridad necesarias para dicho propósito.

2. De igual manera nos encontramos elaborando una hoja de Análisis de Seguridad del Trabajo (AST) adecuado para las labores que estaremos realizando.

3. Drenajes de tanques de Laboratorio #1. Instalados y sólo estamos a la espera de instalar sistema de aspersión.



Foto 8. Contenedor de 20' en campamento MPSA



Foto 9. Drenajes instalados en tanques de Laboratorio #1

4. Solicitud de permiso de ANAM lista para ser incorporada y presentada.
5. Estudiantes Karen Wang y Michelle Reeves de la Universidad de McGill han proporcionado documentos necesarios y se encuentran a la espera de indicaciones para obtener ID, el cual les autoriza la entrada al área del proyecto Cobre Panamá.
6. El día Lunes 18 del presente, falleció otro macho de nuestra colección. Dicho macho ya presentaba trastornos fisiológicos, tales como; retención de fluidos, espasmos musculares, descoordinación, entre otros, antes de ser iniciado el tratamiento.
7. El macho fue procesado y preservado en formalina al 10%, para posteriores estudios de histopatología.



Foto10. Macho de *A. varius*, fallecido el día Lunes 18/02/13 en EVACC.

6.2. 21 al 27 de Febrero, 2013

1. En esta semana continuamos con el tratamiento final con solución de Itraconazole al 0.01% a los individuos de *Atelopus varius* contenidos en cuarentena de EVACC.



Foto11. Hembra de *A. varius* en bolsa ziploc durante tratamiento

2. El personal de EVACC recibió la visita de la **Jack Hanna**, Naturalista y Presentador de televisión para filmar parte de su serie-documental "**Into the Wild with Jack Hanna".**



Foto12. Personal de EVACC con Jack Hanna (A. González, H. Ross, J. Hanna y M. Pérez)

3. Debido a que el último día de tratamiento con solución de Itraconazole al 0.01% fue el lunes 25 del presente mes, el día de ayer fue dedicado a colectar los diferentes materiales que serian necesarios para acondicionar los recintos donde serian colocados los individuos luego de terminar su cuarentena.
4. Una vez colectadas las plantas, rocas, musgo, potes para plantas los mismos fueron cuidadosamente desinfectados con solución de Hipoclorito de Sodio al ≥2% y agua caliente (≥60 ^{0}C). Los acuarios de vidrio también fueron desinfectados de la forma antes descrita.



Foto13. Rocas para potes con plantas



Foto14. Plantas para colocar en acuarios de vidrio

5. El día 26 de febrero realizamos todas las pruebas necesarias para asegurarnos de que el sistema de aspersión, luces, control de temperatura, drenajes, etc. se encontraban en condiciones óptimas para recibir a los nuevos inquilinos.



Foto 15. Acuarios de vidrio con drenajes y luces para *A. varius*



Foto16. Sistema de aspersión y temporizador

6. En los últimos diez días y durante el tratamiento perdimos un total de siete individuos, la mayoría de los cuales se encontraban en estadios jóvenes o adultos inmuno-comprometidos.
7. El estrés causado por el tratamiento afecta negativamente la salud de los individuos, lo cual es algo que desafortunadamente no podemos controlar.
8. Una de las causas por las cuales el tratamiento con Itraconazole fue suspendido en meses pasados, fue debido a que teníamos demasiados individuos juveniles, los cuales presentan una alta taza de mortalidad cuando son expuestos a Itraconazole.
9. Esperar fue una buena estrategia para “reducir” la taza de mortalidad durante el tratamiento.
10. En el día miércoles 27 del presente mes, finalmente los individuos de *Atelopus varius* que estaban mantenidos en cuarentena de EVACC y provenientes del área de uso múltiple del Proyecto Cobre Panamá, fueron movidos a las nuevas instalaciones.



Foto 17. Acuarios de vidrio en Lab# 2 con *Atelopus varius*



Foto 18. Acuarios de vidrio en Lab# 2 con *Atelopus varius* y sistemas funcionando.

11. En el día de hoy todos los animales fueron medidos, pesados y se les realizo un examen general de su estado de salud.
12. Adicionalmente iniciamos un registro fotográfico de cada animal, el cual estará asociado al código individual de cada uno. Para esto tomamos una fotografía dorsal y otra ventral de cada individuo.



Foto 19. ***Atelopus varius*** **MPSA A-27 hembra Q. Valle Grande Grande**



Foto 20. ***Atelopus varius*** **MPSA A-27 hembra Q. Valle**

6.3.- 28 de Febrero al 6 de Marzo, 2013

1. En el día 27 de Febrero del presente los animales que manteníamos en cuarentena fueron trasladados a las instalaciones de la nueva infraestructura del Modulo de Conservación de Anfibios MPSA-HZI.
2. En total 29 individuos (machos, hembras y juveniles) finalizaron el tratamiento el día lunes 25 de Febrero.
3. Al momento de transferir los animales el día 27 de febrero registramos 4 animales muertos. Los mismos fueron fijados de acuerdo al criterio para el cual serán utilizados (muestras para museo y estudios histopatológicos para determinar la causa de muerte).



Foto 21. Hembra *A. varius f*allecida en nueva infraestructura

4. Generalmente al momento de fallecer un animal se colectan datos de: Muestra de piel para posterior análisis de PCR, muestra de tejido (hígado) para banco de tejidos y fuente de AND de la especie, masa corporal y longitud hocico cloaca, cualquier dato relevante asociado a la causa de muerte.
5. Finalmente el individuo es disectado mediante corte longitudinal desde la base de región ventral hasta separar los huesos del "Esternón" (Xifisternon, Mesosternon, Epicordal, Coracoides, separando Clavícula y Escápula), se exponen órganos internos y se fija en formaldehído al 10%.
6. En el día de hoy 6 de marzo, finalmente y luego de eliminar de manera sistemática las posibles causas de muerte hemos decidido remover los animales restantes de los acuarios de vidrio y mantenerlos en tanques nuevos de acrílico hasta tanto podamos determinar la causa del problema.





Foto 22. Termómetro mostrando en Lab. # 2. **Foto 23. Deshumidificador en Lab. #2.**

7. Con el propósito de descartar la posibilidad de que las muertes están siendo causadas por deshidratación, deficiencias osmorrgulatoria o deficiencia de calcio hemos administrado una solución de electrolitos, Gluconato de Calcio 10%, y Salina al 0.9% diariamente/30 minutos/ 3 días-5.



Foto 24-24 a. Animales siendo tratados con solución rehidratante en platos petri

8. Adicionalmente a los animales se les está aplicando radiación Ultra Violeta (UV) del tipo B (10% o 280-320 nm) y UV-A en una taza no mayor del 15% aproximadamente, los cuales se ha demostrado median la absorción del Calcio, síntesis de vitamina D3, aumentan el apetito, promueven reproducción, previene/revierten la ocurrencia de la Enfermedad Metabólica de los Huesos, entre otros.
9. El día domingo 3 de marzo hubo una pérdida del fluido eléctrico en el área en del Zoológico El Níspero, lo cual adiciona más estrés, pues las condiciones constantes a las cuales los animales deben adaptarse se vieron interrumpidas por espacio de 24 horas.



Foto 25. Personal de Edemet SA reemplazando poste eléctrico.

10. Durante esta semana también realizamos la compra de un centro de lavado (lavadora y secadora), refrigerador pequeño para almacenar medicamentos y otros en los laboratorios.
11. En estos momentos estamos a la espera de cotización por parte de contratista para adecuar un área específica que será utilizada como “lavandería”.



Foto 26. Refrigerador pequeño para almacenar medicinas

12. En cuanto al contenedor que será utilizado como estación temporal en campamento MPSA, sólo es necesario conectar suministro de agua y drenajes para que el mismo se encuentre 100% operacional.

6.4- 7 al 13 de Marzo, 2012

1. Debido a que a inicios de esta semana aun estábamos registrando un promedio de 1.5 muertes por día, decidimos dar inicio a un ciclo extraordinario de tratamiento con Itraconazole al 0.01% a los 14 animales restantes.
2. Luego de examinar cuidadosamente al microscopio una muestra de piel de uno de los animales fallecidos, verificar la posición en que fallecían los animales dentro del tanque de acrílico, observar la similitud de las condiciones físicas aparentes de todos los animales fallecidos (piel reseca y brillante, desprendimiento excesivo de piel, rapidez de la muerte) y a pesar de no contar con un método diagnóstico más apropiado, en estos momentos, nos atrevemos a declarar que la posible causa de

muerte de los animales es debido a una “reinfección accidental” del hongo Batrachochytrium dendrobatidis.

3. Los efectos de dicha reinfección pueden estar siendo más letales debido a la posible presencia de infección bacteriana secundaria.
4. Por lo anterior dimos inicio al tratamiento el día viernes 8, de marzo. En este día aun contábamos con 14 animales, los cuales fueron sometidos al tratamiento con Itraconazole al 0.01% por diez minutos/6 días.
5. Adicionalmente luego de proporcionar el tratamiento y desinfectar los recintos apropiadamente, cada uno de los animales reciben una dosis de solución rehidratante y Gluconato de Calcio 10%, además de radiación Ultravioleta del tipo B por espacio de 30 minutos al día.
6. Los recintos donde se están manteniendo los animales durante esta segunda ronda de tratamiento con Itraconazole 0.01% consisten de un papel toalla húmedo y escondite de plástico en el fondo, además de un papel toalla húmedo en la tapadera para evitar la desecación y mantener moscas dentro del tanque. Buscamos mantener las condiciones lo más sencillas posible





Fotos 27. Tanques de acrílico con A. varius **Foto28. A. varius en tanque simple**

7. Todos los animales son revisados y los contenedores humedecidos manualmente a primeras horas de la mañana de cada día. De igual manera proveemos alimentación y cualesquiera otra cosa que sea necesaria al momento de la revisión matutina.
8. Si encontramos algún animal muerto o moribundo lo sacamos inmediatamente de su tanque y colocamos en una bolsa ziploc para su posterior necropsia, observación preliminar en busca de causa de muerte aparente y fijación en formaldehído al 10%.
9. Al momento de verificar la presencia de animales muertos o moribundos se toman todas las medidas necesarias para reducir los riesgos de contaminación cruzada.
10. A todos los animales fallecidos se les toma una muestra de piel o “swab” para posterior análisis de PCR y determinar la presencia de Bd. Adicionalmente tomamos una muestra de tejido (hígado en este caso), para banco de ADN de EVACC.



Foto 29. *A. varius f*allecido listo para se fijado.



Foto 30. Necropsia de *A. varius* fallecido

11. Aun para el día 12 de marzo no sabemos a ciencia cierta cuál ha sido la causa de tan alta taza de mortalidad. Hoy 13 de marzo decidimos suspender el tratamiento con Itraconazole al 0.01% para reemplazarlos a partir de mañana por un tratamiento con antibiótico y poco invasivo.
12. El tratamiento que aplicaremos es el antibiótico de amplio espectro Baytril 0.1% inyectable, el cual aplicaremos de manera tópica en el dorso de cada individuo por 5 días, si las muertes están siendo causadas por septicemia provocada por infección bacteriana, este tratamiento debe eliminar el problema al 100%.
13. Es importante mencionar que los acuarios de vidrio donde manteníamos a los animales unas vez que fueron transferidos desde cuarentena permanecen vacíos. Los mismos han sido desinfectados profundamente y no colocaremos animales en ellos hasta estar 100% seguros de que los mismos son seguros.



Foto 31. *A. varius* en tratamiento

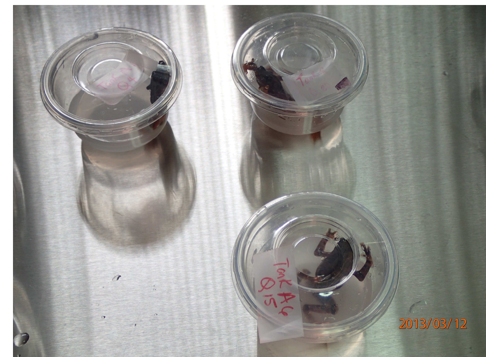


Foto 32. Acuarios de vidrio desinfectados

14. En todo momento hemos mantenido una temperatura constante de(27 oC) dentro del laboratorio # 2 del Módulo de Conservación MPSA-HZI, donde estamos manteniendo a los animales



Foto 33. Termómetro en Lab. # 2. Temperatura y humedad

15. Con respecto al contenedor de 20 pies que será utilizado como recinto temporal ubicado en Campamento MPSA aun no se encuentra operacional, (necesita agua y drenajes) y recientemente se encontró un serio problema de filtración de agua de lluvia dentro de la infraestructura.
16. El departamento de Ambiente de MPSA ha contactado el personal necesario para que sean tomadas mediadas para la inmediata solución del problema.

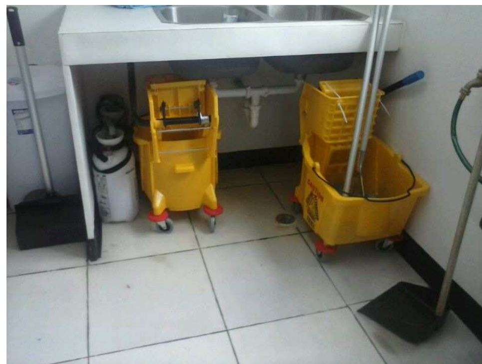


Foto 34. Área inundada de contenedor



Foto 35. Mostrando los efectos de la humedad

17. El taller de Manejo de Anfibios en Cautiverio organizado por Amphibian Ark esta programado para celebrarse del 1 al 6 de abril del presente año en las instalaciones del Instituto Smithsonian, en Gamboa, Ciudad de Panamá.
18. Se ha programado la asistencia de todo el personal de apoyo de EVACC, (SNC Lavalin y STRI) a dicho taller. De manera tal que Abyleth González y Diana Troetsch de Lavalin y Dalina Cosme y Lizandro Vásquez de STRI asistirán en calidad de estudiantes. Mientras que Edgardo J. Griffith y Heidi Ross de Lavalin y STRI, respectivamente, atenderán en calidad de instructores.
19. Se harán las coordinaciones necesarias para que los animales en EVACC nunca estén sin atención, mientras el personal atiende a dicho taller.

6.5- 14 al 21 de Marzo, 2013

1. El día 14 de Marzo del presente decidimos iniciar tratamiento con antibióticos de amplio espectro para los seis animales sobrevivientes. El tratamiento seleccionado fue una mezcla de Baytril solución inyectable al 5%, con salina al 0.9 % lo cual se mezclo en proporción de 9:1.

2. Dicho tratamiento fue aplicado directamente en el dorso de cada uno de los seis animales diariamente por un periodo de 5 días. En estos momentos los animales sobreviviente se encuentran bien y libres de infección.
3. Desafortunadamente un día después de haber iniciado el tratamiento perdimos uno de los seis animales, por lo cual al final sólo han sobrevivido cinco.
4. El día 15 de Marzo procedimos a darle una desinfección final a los tanques, piedras y plantas que van dentro de los mismos, con el fin de transferir a los animales sobrevivientes.
5. Para dicha desinfección utilizamos agua caliente (≥ 50 oC), pistola de calor y solución de hipoclorito de sodio al ≥ 2%.



Foto 36. Rocas y potes humeantes luego de ser desinfectados.

6. Los animales fueron transferidos en horas de la tarde luego de que los tanques o acuarios habían sido preparados para este propósito.
7. Los animales se mantuvieron en observación durante los días siguientes y el sistema de aspersión estuvo desconectado hasta horas de la mañana del día Martes 19 de Marzo del presente. La hidratación de los tanques con los animales se ejecuto de manera manual, varias veces al día, utilizando botellas con atomizadores.
8. En los tanques de vidrio o acuarios es más fácil aplicar el tratamiento con Baytrtil y alimentar a los individuos. De igual manera nos permite observar más fácilmente el comportamiento de los animales.



Foto 37. Tanque de vidrio con individuo de *A. varius*

9. En esta semana continuamos con los trabajos de adecuación del área de cuarentena de EVACC, en donde implementaremos el periodo inicial de cuarentena de los animales que estamos próximos a rescatar, provenientes del área de uso múltiple de Proyecto Cobre Panamá.



Foto 38. Vista de cuarto de cuarentena antes de limpieza y pintura.

10. Hemos dedicado alrededor de dos a tres horas diarias en esta semana para acondicionar el área de cuarentena, haciendo una profunda limpieza y desinfección, utilizando Lyzol (limpiador y antibacterial) desde los pisos paredes, ventanas y techo.
11. Posteriormente procedimos a pintar con pintura especial anti-hongos e impermeabilizante.
12. En estos momentos estamos acondicionando los anaqueles que serán utilizados para esta infraestructura, la misma estará lista para principios de la próxima semana.



Foto 39. Vista de cuarto de cuarentena limpio y pintado

13. Respecto al contenedor de 20 pies en Campamento MPSA, aun persisten los problemas de filtración y el personal de OSSA esta realizando las coordinaciones necesarias con el departamento de Ambiente de MPSA, para ejecutar los trabajos de corrección de dichos problemas.

6.6- 22 al 28 de Marzo, 2013

1. Durante esta semana dedicamos una significativa parte de nuestro tiempo a hacer una evaluación de la infraestructura general de EVACC. Con el fin de determinar cuales son las necesidades más urgentes que deben de ser cumplidas en términos de seguridad laboral, plan de evacuación y salud ocupacional.
2. Además colaboramos en las coordinaciones para la instalación del reemplazo del compresor del compresor del aire acondicionado central del área de exhibición de EVACC. Esto principalmente debido al hecho de que el contratista encargado de elaborar presupuesto para compra e instalación de generador de respaldo, necesita que todos los sistemas se encuentren funcionando al momento de tomar las lecturas correspondientes.
3. Durante esta semana también desmontamos la bomba del sistema de filtración de Osmosis Inversa para mandarla a reparar. La misma fue reparada en Ciudad de Panamá y fue colocada nuevamente en el sistema el día Sábado 23 de Marzo del presente.
4. En esta semana también hemos finalizado el proceso de limpieza, adecuación y pintura de nuestra área de cuarentena. La infraestructura esta limpia y lista pare recibir nuevos animales.
5. El día Lunes 25 de Marzo Edgardo J. Griffith en coordinación con Rebeca Acosta de del departamento de Ambiente **MPSA** y Logística de **SNC** Lavalin Panamá, realizó una visita a campamento de MPSA con el fin de ayudar en la coordinación de las labores de reparación de contenedor de 20 pies para anfibios, por parte de personal de **OSSA**. El personal no se presento a realizar dichas reparaciones en la fecha antes mencionada.
6. Adicionalmente coordinamos una reunión con departamento de Seguridad Industrial, Ing. Omar Prado para evaluar formularios de Análisis Seguro del Trabajo (AST) que serán implementados en labores de rescate de **EdI** de Anfibios.
7. EL día 27 de marzo del presente recibimos a personal de **EMOTION** y se realizaron las labores de filmación requeridas en las instalaci0ones de **EVACC.**
8. El objetivo de la visita del personal de **EMOTION** fue para realizar entrevista a Edgardo Griffith y filmar las actividades que se están llevando a cabo en las instalaciones. Además de hablar a cerca del acuerdo de cooperación existente entre **MPSA** y **HZI**.
9. Para finalizar informamos la muerte de uno de los cinco individuos de *Atelopus varius* que sobrevivió a la mortandad causada por infección bacteriana. Es posible que el animal haya muerto por causas naturales o como resultado de malfuncionamiento sistémico por los diferentes tratamientos aplicados el los últimos meses.
10. Taller de conservación de anfibios de **Amphibian Ark** estaba programado para iniciar desde el 1 al 6 de Abril, 2012 y se celebro en las instalaciones de El Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales, en Gamboa, Ciudad de Panamá.

6.7- 29 de Marzo al 11 de Abril, 2013

1. Durante la semana del 29 de Marzo al 5 de Abril y como producto de reunión preliminar con personal de MPSA y SNC Lavalin respecto a los procedimientos a seguir cuando se encuentran especies nuevas, raras o difíciles de identificar de anfibios y reptiles.
2. En dicha reunión fue demostrado a dos veterinarios y dos biólogos los procedimientos básicos que deben de seguirse para mantener un o varios individuos de herpetofauna salvaje mientras se realiza la identificación taxonómica y se determina su nivel de importancia, procedimiento que debe de ser ejecutado previo a la reubicación del o los animales capturados.
3. Esta iniciativa surgió como respuesta para mejorar el manejo realizado por personal de SNC Lavalin de los ejemplares de herpetofauna encontrados en área de concesión durante labores de rescate.
4. El propósito de la práctica antes mencionada tiene la finalidad de maximizar la capacidad del uso de infraestructura y personal disponibles. Esperamos obtener resultados mas aproximados a la realidad en cuanto a diversidad y abundancia de especies.
5. Documentando apropiadamente la herpetofauna presente y encontrada nos brindara una mejor oportunidad para ejecutar un manejo apropiado de los recursos que están siendo afectados por la actividad controlada de alteración de hábitat.
6. En esta semana también el personal de EVACC (Dalina Cosme) y SNC Lavalin (Abileth Gonzales, Diana Troetsch y Edgardo J. Griffith) se traslado a Ciudad de Panamá para asistir a taller de Capacitación Manejo en Cautiverio de Anfibios, Dictado por Amphibian Ark y auspiciado por El Smithsnonian Tropical Research Institute (STRI)
7. Dicho taller tubo lugar en las instalaciones del STRI, en Gamboa y el mismo tuvo una duración de 6 días.
8. En el taller se trataron temas relacionados al manejo de anfibios en cautiverio, mantenimiento, dietas, nutrición, calidad de agua, trabajo de campo, educación ambiental, abundancia y diversidad. Además se cubrieron temas relacionados al estatus mundial de las poblaciones de anfibios y las amenazas a las que se enfrentan.



Foto 40. Ron Gagliardo de Amphibian Ark y R. Ibanez de STRI

9. El taller contó con la presencia de estudiantes de Panamá, Colombia, Ecuador, Guatemala y México y con instructores de Panamá, Estados Unidos y Venezuela.
10. Algunos de los temas en los que se hizo énfasis durante el taller de anfibios fueron aquellos relacionados al manejo en general de poblaciones.

11. Selección de un programa adecuado que cumpla con las necesidades de la especie, teniendo siempre en cuenta que la duración del proyecto dependerá al 100% de la obtención de fondos y tamaño del mismo.
12. Durante el taller se realizaron dos salidas al campo, con el objetivo de familiarizar a los participantes con el proceso de búsqueda y ubicación de especies de anfibios y reptiles en estado salvaje.



Foto 41. Grupo de curso de anfibios preparando para salida de campo 1.

13. Un aspecto sobresaliente del taller fue la demostración de técnicas de diagnostico para detectar la presencia de endoparásitos en anfibios.



Foto 42. Diana Troetsch (Lavalin) y Dr. Brad Wilson (Amphibian Ark)

14. Demostrar el uso de las herramientas necesarias para construir recintos especializados para anfibios es también parte importante en el taller de Manejo de Anfibios.
15. En general los participantes del taller de Manejo de Anfibios terminan con una preparación básica que les permite enfocar de manera consistente los retos que representa implementa un programa de manejo *Ex situ* de anfibios.



Foto 43. Estudiantes practicando la perforación de vidrio para acuarios

16. Al final los estudiantes tenían el compromiso de presentar un proyecto práctico final utilizando las técnicas aprendidas durante la semana.



Foto 44. Estudiantes mostrando uno de los proyectos finales



Foto 45. Estudiantes presentando proyecto final

17. De la misma manera los estudiantes fueron divididos en grupos de 4-6 integrantes con el fin de permitirles trabajar con miembros con diferentes carreras, pertenecientes a diferentes instituciones e incluso de diversas nacionalidades.
18. El proyecto final teórico y mas importante fue el de elaborar un proyecto de conservación para la especie de anfibio que fue asignada el primer día a cada uno de los grupos.
19. Finalmente a cada estudiante le fueron entregados varios documentos para evaluar el desempeño de los instructores además de determinar el nivel de aprendizaje de los estudiantes. El examen escrito permitirá a los miembros de Amphibian Ark, hacer ajustes en aquellos aspectos en el que los estudiantes puedan demostrar debilidades, con el propósito de hacer ajustes en talleres venideros.



Foto 46. Estudiantes tomando prueba final escrita

20. Luego de finalizado el taller de anfibios el día Sábado 6 de Abril, 2013, y trasladarnos a El Valle de Anton, encontramos que uno de los 4 individuos de *A. varius* sobrevivientes y mantenidos en las instalaciones del Modulo de Conservación de Anfibios de MPSA-HZI había fallecido.
21. Al momento de hacer una necropsia preliminar y observar muestra de piel bajo el microscopio, uno de los veterinarios de EVACC, Dr. Eric Baitchman determino que en dicha muestra existía la presencia de estructuras similares a aquellas encontradas en la piel de anfibios infectados por el hongo quitridio.
22. Debido a lo anterior tomamos la decisión y por recomendaciones de los veterinarios de remover los tres animales sobrevivientes de vuelta al área de cuarentena, e iniciar un nuevo tratamiento contra el hongo quitridio.
23. Además de preparar una evaluación del personal que ha ejecutado los tratamientos para determinar si se han cometido errores repetitivos que hayan permitido una interrupción en las medidas de seguridad que deben de seguirse en todo momento cuando se aplica cualquier tipo[o de tratamiento a los animales mantenidos.
24. Como primer paso se evalúo el desempeño de Abileth Gonzales, como se muestra en la foto 10.



Foto 47. Evaluación de Abileth Gonzales por Veterinarios de EVACC.

25. Aunque resulta irrelevante para el propósito de determinar si hubo error humano o no durante la aplicación de el ultimo tratamiento con Itraconazole 0.01% a los animales sobrevivientes, reconocemos que el desempeño de Abileth fue sobresaliente durante su evaluación.
26. Los animales serán mantenidos en cuarentena y tratados con Itraconazole al 0.01% por diez minutos/10d. Además se les aplicará una solución de Baytril al 1%, a manera de gotas en la piel dorsal de cada animal, diariamente y después de cada tratamiento al partir del 3er día del tratamiento con Itraconazole.

27. En este reporte también informamos que el día Jueves 11 de marzo recibimos un individuo macho de *A. varius* encontrado en área cercana a sendero de liberación de fauna. El individuo se encuentra en buen estado físico aparente y ha sido incorporado a nuestra cuarentena.



Foto 48. *Atelopus varius* (Av 050-001)

28. Momentos después de su llegada observamos muestras fecales del individuo y determinamos la presencia de endoparásitos pulmonares del genero *Rhabdias* (infección moderada). A su debido tiempo, al mismo se le estará proporcionando tratamiento adecuado para controlar la infección.
29. Actualmente mantenemos cuatro animales en cuarentena.



Foto 49. *Rhabdias spp* en muestra de heces de *A. varius.*



Foto 50. Individuos mantenidos en cuarentena de EVACC.

6.8- 12 al 24 de Abril, 2013

1. Durante la semana del 12 al 17 del presente continuamos administrando el tratamiento profiláctico de Itraconazole al 1% a los 4 individuos mantenidos en nuestra área de cuarentena.
2. La decisión de iniciar un tercer periodo de tratamiento fue siguiendo las recomendaciones del grupo de veterinarios de EVACC, los cuales hicieron un diagnostico preliminar del hongo *Bd* en muestra de piel de animal muerto dentro de nuestras instalaciones.
3. Dicho diagnostico fue hecho basado en observación de muestra de piel en un microscopio, bajo aumento de 40X, por lo cual no es 100%, confiable.

4. A los animales siendo tratados con Itraconazole 0.01 % también se les adiciona un tratamiento con el antibiótico de amplio espectro Baytril 1%, solución eyectable el fin de prevenir infecciones bacterianas.



Foto 51. 4 individuos de *A. varius* siendo tratadas



Foto 52. Macho de *A. varius* siendo tratado.

5. El día 15 y 16 Edgardo J. Griffith en coordinación con departamento de Ambiente de MPSA realizó visita a campamento con el fin de colaborar en las labores de reparación de problemas de filtración de agua en contenedor de 20 pies.
6. En esta ocasión también tuvimos la oportunidad de hacer una breve visita al sitio donde el personal de SNC Lavalin encontró el ultimo individuo de A. varius y para nuestra sorpresa también encontramos un individuo macho de la misma especie en área cercana a tubería de toma de agua Petaquilla, en la Quebrada Valle



Foto 53. Macho de *A. varius* en Quebrada Valle Grande



Foto 54. Hábitat donde estaba *A. varius* en Q. Valle Grande

7. El individuo fue colectado en bolsa plástica y transportado adecuadamente hasta la clínica veterinaria y colocado en tanque de acrílico con condiciones necesarias y adecuadas para él. Se programó el traslado del individuo para EVACC dentro de las primeras 24 horas posteriores a su captura.
8. El individuo en la foto 64, fue trasportado a EVACC el día viernes 19 del presente por personal de SNC Lavalin, en estos momentos el individuo se encuentra bajo observación.
9. El día 24 de Abril recibimos la visita del Ing. José Ramón Perurena y Dr. Roberto Ibañez, de STRI, los cuales vinieron a hacer una inspección para verificar las fallas que tenemos en la infraestructura en cuanto a seguridad y salud ocupacional.
10. Finalmente se ha comprado los muebles que hacían falta para el área de hospedaje del personal alojado en anexo MPSA, en EVACC.



Foto 55. Sofá y juego de comedor de área de hospedaje de empleados de acuerdo MPSA en EVACC

a. 25 de Abril al 1 de Mayo, 2013

1. Durante este periodo se nos ha solicitado la identificación de varias especies de anfibios y reptiles que han sido encontrados en el área de Proyecto Camino de Penetración-STRACON y Frente Punta Rincón.
2. En total hemos identificado 3 serpientes, un gecko y varios anfibios del orden Anura.



Foto 56. *Pristimantis ridens* Frente Stracon



Foto 57. Colúbrido encontrado en Campamento MPSA

3. En esta semana también finalizo el periodo de pasantía de las estudiantes de la Universidad de McGill (Karen Wang y Michelle Reeves). Las estudiantes compilaron en un sólo documento los Protocolos Estándares de Operaciones de **EVACC** y su infraestructura anexa, como proyecto final para su pasantía.
4. En dicho protocolo se han registrado el 90 % de las actividades que realizamos en **EVACC** y el mismo debe de ser utilizado como una guía de referencia rápida por aquel personal que se encuentra realizando labores en estos momentos y en el futuro en cualesquiera de las áreas de nuestra infraestructura.

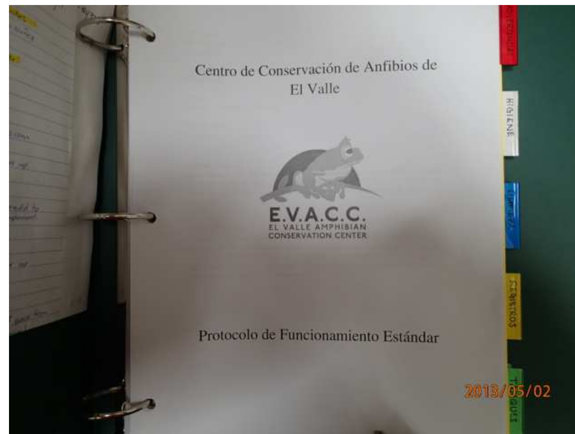


Foto 58. Protocolo Estándar de Operación de EVACC.

5. La compilación de un protocolo de operaciones para **EVACC** como proyecto final por parte de las estudiantes fue sugerida como alternativa al proyecto de investigación que originalmente habíamos preparado.

6. El día 26 de Abril, Edgardo J. Griffith asistió a la presentación de proyecto final de las estudiantes Wang y Reeves, Celebrado Ciudad de Panamá, Universidad Nacional.



Foto 59. Estudiantes Wang y Reeves de McGill dando presentación final.

7. En este periodo también ejecutamos la aplicación a permiso científico y de colecta a la Autoridad Nacional del Ambiente (ANAM) para así iniciar formalmente los trabajos de búsqueda y rescate de las Especies de Interés de Anfibios (**EdIA**) del área de concesión de Proyecto Cobre Panamá.

8. En estos momentos estamos a la espera de revisión y aprobación de los documentos e informes correspondientes a permiso previo por parte del personal de **ANAM**. Estimamos que en un periodo no mayor de dos semanas estaremos recibiendo notificación de parte de **ANAM**.

9. Mientras tanto también hemos hecho la entrevista y búsqueda necesaria de posible candidato (Abdiel Hernández) que debe de ser contratado como cuidador

de insectos para colaborar con proyecto de conservación y rescate de anfibios objeto del acuerdo existente entre **MPSA** y **HZI**.

10. Una ves se de inicio y dicha persona sea contratada y nuestra aplicación a permiso de colecta aprobada estaremos en capacidad de dar inicio propiamente a las labores de rescate de **EdI** del área de Concesión de **MPSA**, Proyecto Cobre Panamá.

3 al 15 de Mayo 2013.

1. Durante este periodo y siguiendo las indicaciones del Ing. Perurena, instalamos alarmas de humo e incendio operadas a baterías en toda la infraestructura.
2. Lo anterior es con el propósito de cumplir con las normas mínimas de seguridad necesarios para mantener nuestras operaciones sin incurrir en faltas que pongan en peligro el bienestar del personal o animales a su cargo.
3. Además instalamos hicimos la compra e instalación de un microondas en el área de hospedaje del personal de SNC Lavalin.



Foto 60. Alarma de humo e incendio



Foto 61. Microondas con tablilla de soporte

4. Durante este periodo también realizamos un sin número de labores de limpieza y adecuación de toda el área cercana a la infraestructura de EVACC.
5. Realizamos la reubicación y cambios de equipos que se encontraban descuidados o en mal estado.
6. Hemos aprovechado también para realizar trabajos necesarios a la infraestructura, instalado bombas y sistemas de aspersión, mangueras, entre otros.
7. Adicionalmente obtuvimos la visita de un electricista con el propósito de obtener una segunda opinión a cerca del diagnostico hecho por la compañía Engeneering & Construction Contract Management, referente a la necesidad de reemplazar el cable de alimentación que va de EVACC al modulo de MPSA, para reducir la caída de corriente que ocurre en el recorrido entre ambas infraestructuras.
8. De acuerdo a las lecturas tomadas por el segundo electricista, si es necesario hacer un cambio en el calibre del cable que suministra electricidad al anexo antes mencionado.
9. Otra medida que se ha puesto en marcha para regularizar las cargas y balancear las mismas, ha sido la instalación de un sistema apropiado de aislamiento a tierra en la paredilla, donde ocurre la entrega primaria desde el transformador.



62. Paredilla en donde se reemplaza acometida aislamiento a tierra.

Lo anterior representa un resumen de las actividades más sobresalientes realizadas como parte del proceso de ejecución del acuerdo existente entre Minera Panamá y El Zoológico de Houston-EVACC.

En estos momentos estamos listos para dar inicios a los trabajos de rescate y sólo estamos a la espera de la notificación de que nuestro permiso de colecta esta listo, por parte de la **ANAM.**